

Santos, SC¹; Santos, TB¹; Lopes, MA¹; Britto, DS¹; Mariano, AC¹; Pires, ABL¹; Pirovani, CP¹; Micheli, F²; Gesteira, AS¹; Cascardo, JCM¹¹ Laboratório de Genética e Biologia Molecular, Genômica e Expressão Gênica - Departamento de Ciências Biológicas - Universidade Estadual de Santa Cruz, Ilhéus - Bahia, ² CIRAD-CP, UMR PIA, Montpellier - França.

As hidrofobinas de *Crinipellis pernicioso* são diferencialmente expressas durante o desenvolvimento do fungo e colonização de tecidos de cacau

Dentre a enorme diversidade fúngica está presente o fungo filamentoso *Crinipellis pernicioso*, um basidiomiceto hemibiotrófico responsável pela doença vassoura-de-bruxa no cacauzeiro, a doença que nos últimos 15 anos vem provocando perdas significativas nas lavouras cacauzeiras do Sul da Bahia. Este fungo propaga-se por basidiósporos produzidos em basidiomas e este evento é favorecido nas condições de monocultura e clima da região. O entendimento do ciclo de vida deste patógeno, bem como dos fatores que podem impedir a sua propagação, são de fundamental importância para o controle de fitopatógeno. Dentre as estratégias de controle, o genético, é o mais promissor. O sequenciamento de bibliotecas genômica do *C. pernicioso*, de *ESTs* da interação cacau-*Crinipellis* e do desenvolvimento do fungo em sistema artificial permitiu a identificação de genes importantes desse patossistema. A partir dos dados de sequenciamento dessas bibliotecas foram identificados genes de hidrofobinas. As hidrofobinas são proteínas de peso molecular em torno de 12 kDa, e são secretadas quando ocorre infecção de hospedeiros por fungos filamentosos. Essas proteínas possuem caráter anfipático, possuem entre 75 e 125 aminoácidos e são sintetizadas na forma monomérica, formando um filme anfipático na presença de uma interface hidrofílica/hidrofóbica. As hidrofobinas possuem papel essencial durante a colonização, crescimento e desenvolvimento fúngico. Com isso, a hidrofobina torna-se um excelente alvo de estudo para o entendimento do ciclo biológico visando o controle de fungos fitopatogênicos. As seqüências de hidrofobinas foram submetidas a análises de bioinformática, o número de cópias do gene no genoma foi avaliado e a expressão gênica estudada em nível transcricional por meio de RT-PCR semi-quantitativo. Para tal foi realizado o cultivo do fungo em sistema artificial (bolachas) e o RNA total extraído de diversas fases do desenvolvimento fúngico e de tecidos infectados. O sequenciamento das bibliotecas de *ESTs* de *C. pernicioso* permitiu a identificação de quatro cDNAs distintos que codificam para hidrofobinas. As análises de seqüências por bioinformática mostrou que estas apresentam alta homologia com proteínas da classe I e que a exemplo de outros basidiomicetos, não foram encontradas hidrofobinas da classe II. O número de cópias de hidrofobinas foi confirmado via *Southern blot*, compondo uma pequena família gênica. Análise de expressão dos genes por meio de RT-PCR semi-quantitativo mostrou uma alta expressão durante a fase micelial e que ela é bem caracterizada entre as hidrofobinas distintas. Todas as hidrofobinas são expressas nos basidiocarpos, porém em níveis distintos. Os ramos infectados apresentam apenas a expressão de duas hidrofobinas (*HCp-1* e *HCp-3*), indicando uma especificidade de função. A análise funcional destas proteínas é de extrema importância uma vez que elas participam de processos de colonização fúngica e dispersão de esporos. ■

Agências financiadoras: UESC, BNB, CIRAD, FAPESB.